

氏名(本籍)	井内聖 (徳島県)
学位の種類	博士(理学)
学位記番号	博甲第1,795号
学位授与年月日	平成10年3月23日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
審査研究科	生物科学研究科
学位論文題目	Characterization of Drought-Inducible Genes in the Highly Drought-Tolerant Cowpea (<i>Vigna unguiculata</i>) (耐旱性マメ科植物カウピー (<i>Vigna unguiculata</i>) の乾燥誘導性遺伝子の解析)
主査	筑波大学客員教授 理学博士 篠崎一雄 (理化学研究所)
副査	筑波大学教授 理学博士 鎌田博
副査	筑波大学併任教授 農学博士 地神芳文 (生命工学工業技術研究所)
副査	筑波大学教授 理学博士 平林民雄

論文の内容の要旨

植物を取りまく様々な環境ストレスのうち、特に乾燥ストレスに対する植物の分子レベルでの応答機構を解析した。これまで植物の乾燥ストレス応答は、主にシロイヌナズナや著しい乾燥耐性を示す復活草などを用いて解析が行われてきた。しかし、作物に関する解析例は少なく、本論文では、乾燥に強く主に西アフリカの乾燥地帯で栽培されているマメ科作物のカウピーの乾燥応答機構を分子レベルで解析している。

本論文では、まずはじめにカウピー(乾燥耐性品種2246)の乾燥応答の特性を調べるため、ディファレンシャルスクリーニング法を用いて乾燥誘導性遺伝子のcDNA(CPRD; CowPea clones Responsive to Dehydration)を単離した。得られたCPRD遺伝子の発現解析の結果、11種類のCPRD遺伝子において乾燥ストレスによる発現量の上昇が見られ、また再吸水処理により乾燥ストレスを解除すると発現量の減少が認められた。CPRD遺伝子の多くは塩処理によって誘導され、高温、低温処理による発現誘導は認められなかった。遺伝子発現をはじめ乾燥ストレス応答に重要であるアブシジン酸(ABA)を処理すると、発現誘導されるCPRD遺伝子と誘導されないCPRD遺伝子が認められた。11種類のCPRD遺伝子の配列解析の結果、9つのCPRD遺伝子は新規の乾燥誘導性遺伝子であった。これらのうちCPRD65はABAの生合成に関する酵素遺伝子(VP14)と高い相同性を示した。カウピーでは、乾燥処理開始後2時間以内に内生ABAレベルが上昇し、乾燥処理10時間後には無処理の160倍に達した。CPRD65遺伝子の乾燥ストレスによる発現パターンは、内生ABAレベルの増加パターンと一致した。このことから、乾燥ストレスによるABAの蓄積が転写レベルで制御されていることが示された。

次に、カウピーの乾燥耐性品種2246と感受性品種9357の乾燥応答の違いを調べた。両品種の乾燥耐性を評価する実験から、明らかに耐性品種が感受性品種より高い乾燥耐性を示した。両品種で葉の構造あるいは乾燥耐性に重要な役割を果たすABAやプロリンの乾燥処理による蓄積量に有意差は見られなかったが、地上部の水分損失速度は耐性品種が感受性品種より低かった。

このような両品種を用いて乾燥応答の違いを分子レベルで比較した。適合溶質生合成系の酵素遺伝子とCPRD遺伝子を分子マーカーとして用い、それらの発現を比較したところ、比較したほとんど全ての遺伝子発現が乾燥

処理によって誘導されることが両品種ともに確認された。しかし、CPRD49遺伝子は感受性品種での発現誘導は全く認められず、耐性品種でのみ発現誘導が認められた。このことから、CPRD49は乾燥耐性に重要な遺伝子であると考えられる。発現解析の結果、CPRD49遺伝子は耐性品種の葉（節部）で強く発現していた。CPRD49の配列解析から酵母のエステラーゼと相同性が認められたが、エステラーゼに保存されている活性領域はCPRD49の配列上に見出せなかった。

本研究では、乾燥応答に関わる新規の遺伝子の存在を明らかにすることができた。乾燥耐性はこれらの遺伝子が協調的に作用することにより獲得されると考えられる。

審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究は、これまであまり明確でなかった農作物の乾燥応答機構を明らかにするため、耐乾燥性のマメ科作物のカウピーを用いて乾燥応答機構を分子レベルで解析している。ディファレンシャルスクリーニング法を用いて乾燥誘導性遺伝子のcDNA (CPRD) を単離し、その構造を決定している。9つの新規の乾燥誘導性遺伝子を明らかにした点に新規性があり高く評価される。さらにそれらの遺伝子の種々のストレスによる発現誘導を解析し、乾燥、塩処理によって発現誘導されることを示した。特にこのうちの1つの遺伝子はABAの生合成に関与する酵素遺伝子と高い相同性を示し、乾燥ストレスによるABAの蓄積が転写レベルで制御されていることを示唆する結果を得たことは世界ではじめての成果であり高く評価できる。さらに、カウピーの乾燥耐性品種と感受性品種の乾燥応答の違いを生理的レベル、及び遺伝子発現レベルで比較し、CPRD49遺伝子は耐性品種でのみ発現誘導することを見だし、乾燥ストレスに対する品種間での発現の違いのある遺伝子を発見したことは乾燥耐性に重要な遺伝子である可能性を示したものであり、この点でも高く評価される。また本研究は、耐乾燥性の作物で乾燥応答、耐性に関わる新規の遺伝子の存在を明らかにしており、遺伝子と耐性との関連を追求した研究は世界でもあまり例がなく独創性があるばかりでなく、植物の環境応答、環境耐性の分子機構を研究する上で今後の発展にも大きく貢献するものと評価できる。

よって、著者は博士（理学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。